

บทที่ 2

การทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศ (Information) ที่เกี่ยวข้อง

การผสมเทียมเป็นวิธีการที่นิยมในการเพิ่มผลผลิตในอุตสาหกรรมการผลิตสุกร ซึ่งปัจจุบันนิยมใช้น้ำเชื้อสดในการผสมเทียม แต่การใช้น้ำเชื้อสดมีข้อจำกัดในด้านระยะเวลาการเก็บรักษา โดยน้ำเชื้อสดสามารถเก็บไว้และใช้ได้เพียง 3-7 วัน ในกรณีที่ต้องการเก็บรักษาพันธุ์กรรมที่ดีของพ่อสุกรไว้เป็นระยะเวลานานจึงจำเป็นต้องอาศัยการเก็บรักษาน้ำเชื้อด้วยวิธีการแช่แข็ง แต่ในปัจจุบันน้ำเชื้อสุกรแช่แข็งยังไม่เป็นที่นิยมในอุตสาหกรรมการผลิตสุกรเนื่องจากให้อัตรการเข้าคลอดและจำนวนลูกต่อครอกต่ำกว่าการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อสด 10-25 เปอร์เซ็นต์ (Waterhouse et al., 2006) เนื่องจากความเสียหายของตัวอสุจิจากกระบวนการแช่แข็ง อันได้แก่ การเกิด cold shock สูญเสียความสมบูรณ์ของเยื่อหุ้มตัวอสุจิ ความสามารถในการเคลื่อนที่ลดลง (Simpson and White, 1986; Robertson et al., 1990) การเกิดกระบวนการ capacitation ภายหลังจากการละลาย (Maxwell and Johnson, 1997) ทำให้อสุจิมีชีวิตอยู่หลังจากละลายได้ไม่นาน การเพิ่มขึ้นของอนุมูลอิสระ (Aitken and Clarkson, 1988) เป็นต้น อนุมูลอิสระในน้ำแช่แข็งนั้นเกิดขึ้นได้ในสภาวะปกติจากการเมตาบอลิซึมของออกซิเจนโดยอยู่ในรูป reactive oxygen species (ROS) ซึ่งเป็นสารอนุมูลอิสระที่มีคุณสมบัติในการเป็นตัวออกซิเดชันสูง ประกอบด้วย ซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน (superoxide anion, $O_2^{\cdot-}$) ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide, H_2O_2) เพอร์ออกซิล (peroxyl radicals) และ ไฮดรอกซิล (hydroxyl radicals, $HO^{\cdot}$) พบว่าการมีระดับสารอนุมูลอิสระที่มากเกินไปทำให้เกิดปฏิกิริยา ลิพิดเพอร์ออกซิเดชัน (lipid peroxidation) ที่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์อสุจิซึ่งมีกรดไขมันเป็นองค์ประกอบหลักส่งผลให้เยื่อหุ้มเซลล์มีความหนืดลดลง (decrease fluidity) และพบการแตกตัวของสายดีเอ็นเอ (DNA fragmentation) การเกิดปฏิกิริยาลิพิดเพอร์ออกซิเดชันที่มากเกินไป ทำให้ความสามารถในการเคลื่อนที่ของเซลล์อสุจิน้อยลง รวมทั้งลดทอนความสามารถในการรวมตัวกันของอสุจิและโอโอไซต์ในระหว่างการปฏิสนธิ (Kim and Parthasarathy, 1998; Roca et al., 2003; Shewetta et al., 2005)

การวิจัยของ Kaekot และคณะ (2008) พบว่าการเสริมสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น water soluble vitamin E, glutathione, L-cysteine โดยเฉพาะการใส่ L-cysteine ที่ความเข้มข้น 5mM ลงใน Freezing extender II สามารถทำให้มีจำนวนอสุจิที่เคลื่อนไหว มีจำนวนอสุจิที่มีอะโครโซมปกติ และมีชีวิตมากกว่าการใส่สารต้านอนุมูลอิสระชนิดอื่น ทั้งนี้เนื่องจากซิสเทอีนมีคุณสมบัติที่สำคัญในการสังเคราะห์โปรตีน เป็นส่วนประกอบของกลูตาไทโอน และเป็นสารตั้งต้นของทอรีน (Stegink et al., 1986) และซิสเทอีนเองมีความสามารถในการถูกขนส่งเข้าเซลล์อย่างรวดเร็ว และเซลล์สามารถ

นำไปผลิตทอรีนได้ ซึ่งทอรีนมีคุณสมบัติในการลดแรงดึงผิวเมื่อมีการเชื่อมกับกรดไขมันบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์สุจิแต่ถึงอย่างไรก็ตามยังไม่มีการศึกษาถึงระดับความเข้มข้นของ L-cysteine ที่เหมาะสมสำหรับใส่ใน Freezing extender II ทั้งนี้เพื่อให้ได้ความเข้มข้นที่ดีที่สุดของ L-cysteine ในการเพิ่มคุณภาพของน้ำเชื้อแช่แข็ง

การเกิด capacitation เป็นกระบวนการทางชีวเคมีที่มีความซับซ้อน ซึ่งอาศัยการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนและไขมันที่เยื่อหุ้มสุจิ การเคลื่อนเข้าออกของไอออน การเพิ่มขึ้นของ cyclic AMP และการเกิด phosphorylation ของโปรตีน tyrosine (Cross, 1998; Visconti and Kopf, 1998) มีการศึกษายืนยันว่าตัวสุจิที่ผ่านการเกิด capacitation เท่านั้นที่จะเกิด acrosome reaction ซึ่งเป็นการรวมกันของ outer acrosome membrane และ plasma membrane โดยการเกิด acrosome reaction มีความสำคัญในการเริ่มต้นการปฏิสนธิในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Zaneveld et al., 1991; Yanagimachi, 1994) เมื่อตัวสุจิที่ผ่านการเกิด capacitation เดินทางมาถึงโอโอไซต์ การปฏิสนธิจะเริ่มด้วยการเกิด acrosome reaction ซึ่งเป็นผลจากการกระตุ้นด้วยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่สร้างจาก cumulus oophorus หรือจากการกระตุ้นจาก zona pellucida (Osman et al., 1989; Wassarman, 1999)

Yang และคณะ (1994) รายงานว่าฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนกระตุ้นให้เกิด acrosome reaction และกระตุ้นการเคลื่อนที่แบบ hyperactivation ของตัวสุจิซึ่งการออกฤทธิ์ของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนอาศัยการจับกับตัวรับฮอร์โมนซึ่งอยู่บนผิวของตัวสุจิ ตัวรับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนมีความสัมพันธ์กับความแข็งแรงของเยื่อหุ้มตัวสุจิและรูปร่างปกติของตัวสุจิของคน (Meizel and Turner, 1991) ตัวสุจิของคนที่มีรูปร่างผิดปกติจะมีตัวรับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนน้อยกว่าตัวสุจิที่มีรูปร่างปกติ (Gadkar et al., 2002) นอกจากนี้ยังพบว่าตัวรับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับการเกิด acrosome reaction ทั้งในคนและสุนัข (Sirivaidyapong et al., 1999; Gadkar et al., 2002)

มีรายการการตรวจพบตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจน ชนิดอัลฟา และเบต้าบนตัวสุจิของคน (Solakidi et al., 2005) และสุกร (Rago et al., 2007) โดยพบตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจน ชนิดอัลฟา ที่ตำแหน่งต่างๆกันบนตัวสุจิ ในสุกรตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจน ชนิดอัลฟาพบบริเวณ mid-piece ซึ่งอาจมีความสำคัญต่อการมีชีวิตอยู่ และการเคลื่อนที่ของตัวสุจิ โดยมีการศึกษาในหนูเม้าส์ที่ไม่มีตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจน ชนิดอัลฟา พบว่าตัวสุจิมีการเคลื่อนที่ลดลง (Korach, 2000)

การตรวจหาตัวรับฮอร์โมนบนผิวของเซลล์สุจิทำได้โดยวิธีอิมมูโนโฟลูออเรสเซนซ์ ซึ่งอาศัยหลักการจับของตัวรับฮอร์โมนกับสารประกอบของแอนติบอดีที่จำเพาะกับตัวรับฮอร์โมนซึ่งจับอยู่กับสารฟลูออเรสเซนซ์ที่ไม่สามารถผ่านเยื่อหุ้มสุจิเข้าสู่ภายในเซลล์ได้ (Contreras and Llanos, 2001; Rago et al., 2007)

จากการทบทวนวรรณกรรมและผลงานวิจัยที่ผ่านมาจะเห็นว่าตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจน และโปรเจสเตอโรนมีความสำคัญต่อการทำหน้าที่ของตัวอสุจิ โดยมีความเกี่ยวข้องกับการเคลื่อนที่ การเกิดกระบวนการ capacitation การเกิด acrosome reaction ซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับการปฏิสนธิ แต่ยังไม่มีการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างตัวรับฮอร์โมนทั้งสองชนิดกับการเปลี่ยนแปลงคุณลักษณะต่างๆของตัวอสุจิของสุกรที่เกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการแช่แข็ง รวมไปถึงผลของการใช้สารต้านอนุมูลอิสระที่อาจมีผลต่อการแสดงออกของตัวรับฮอร์โมน การทราบถึงความสัมพันธ์ต่างๆเหล่านี้อาจใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการพัฒนาเทคนิคการทำน้ำเชื้อแช่แข็งสุกรในอนาคต